

学位授与番号	乙第1564号
学位授与年月日	平成14年6月19日
氏名	木澤和夫
学位論文題目	カロリー病モデル PCK ラットからの肝内胆管上皮細胞の単離、培養ならびにその生物学的特性の検討 —細胞増殖活性および細胞増殖関連遺伝子発現を中心に—
論文審査委員	主査 教授 中 沼 安 二 副査 教授 小 林 健 一 教授 三 輪 晃 一

内容の要旨及び審査の結果の要旨

カロリー病は肝内胆管の多発性嚢状拡張を特徴とする体染色体性劣性遺伝性疾患である。近年、Sprague-Dawley 系 (Crj:CD) ラットのコロニーから多発性の腎嚢胞および肝内胆管の多発性嚢状拡張を示す突然変異動物、polycystic kidney (PCK) ラットが見出され、カロリー病のモデル動物としての有用性が報告されている。本研究では、PCK ラットの肝内胆管拡張の発生機序を明らかにするため、肝内胆管上皮細胞を単離し、継代培養可能な細胞株を樹立を試みた。次に、得られた PCK ラット培養肝内胆管上皮細胞の増殖活性を検討し、さらに DNA マイクロアレイを用い培養肝内胆管上皮細胞における細胞増殖に関連する遺伝子の発現量を Crj:CD ラットと比較した。得られた結果は以下の如くに要約される。

1. 肝内胆管組織片からコラーゲングル上をシート状に増殖する胆管上皮細胞をコラーゲングルごと採取、継代培養し、間質細胞の混入のない肝内胆管上皮細胞を単離することができた。
2. PCK ラット培養肝内胆管上皮細胞は、コラーゲングル上で単層の細胞層を形成し、その遊離縁には酸性糖蛋白の発現がみられ、胆管上皮細胞に特異的なサイトケラチン7とγ-グルタミルトランスぺプチダーゼの発現があり、胆管上皮細胞の形質を保持していた。
3. コラーゲングル上での PCK ラット培養肝内胆管上皮細胞の倍加時間は23時間であり、対照ラットの77時間に比べて短く、肝内胆管上皮細胞の増殖活性が亢進していた。
4. DNA マイクロアレイを用い細胞増殖に関連する遺伝子の発現を検討した結果、DNA 合成酵素であるチミジンキナーゼ、EGF 関連細胞増殖シグナルを伝達するマイトジェン活性化蛋白/細胞外シグナル制御蛋白キナーゼ5の発現亢進がPCK ラット培養肝内胆管上皮細胞でみられた。
5. 上皮細胞の増殖抑制作用を示す形質変換成長因子ベータ (TGF- β) のアイソフォームである TGF- β 3とその受容体である TGF- β I 型受容体、ならびに TGF- β 依存性のアポトーシスに関連する転写因子 AP-1 の一構成蛋白である junD の発現亢進がPCK ラット培養肝内胆管上皮細胞でみられた。

以上、PCK ラットから継代培養可能な肝内胆管上皮細胞株を樹立し、その病的特性を検討した結果、遺伝子レベルでの細胞増殖制御の不調和に基づいた細胞の異常増殖が PCK ラットの肝内胆管拡張の発生に関与していることが示された。本研究は、PCK ラットの肝内胆管の病的特性の一端を明らかにした労作であり、今後の肝臓病理学の発展に貢献する基礎研究と評価された。